

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

2000-

優先権主張

(1975年9月4日米国出願第610,501号)

特 許 願

(特許法第38条第1項第1号の規定による特許出願)

(4,000円)

昭和51年9月3日

特許庁長官 片山 石 郎 殿

1. 発明の名称 ウイルスの検定

2. 特許請求の範囲に記載された発明の数 3

3. 発明者

アメリカ合衆国、ペンシルヴァニア 19038
住 所 (居所) グレンサイド、レイグアーロック ロード
520
氏 名 ロイ エー、マクロウイツ (外2名)

1. 特許出願人

アメリカ合衆国、ニュージャージー、コーウエイ
住 所 イースト リンカーン アヴェニュー 126
メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド
代表者 ジェームス エフ、ノートン
氏 名 国籍 アメリカ合衆国

5. 代 理 人

郵便番号 100
東京都千代田区丸の内3の2の4・富士ビル510号室
〒理士 岡 部 正 夫 (外2名)
(6444)

6. 添付書類の目録

- (1) 明 細 書
(2) 願書副本
(3) 図 面

1 通
1 通
1 通

51 105063

明 細 書

1. 発明の名称

ウイルスの検定

2. 特許請求の範囲

1. ウイルスにより感染され、タンパク染色法で染色されている細胞培養を含有する組織培養平板中細胞被害効果の決定法において、染色された組織培養平板を光源に曝露し、光学的拡大なしに細胞被害効果を決定すること

を特徴とする方法。

2. タンパク染色法がカルボールフクシン染色法である特許請求の範囲第1項記載の方法。

3. 細胞培養を染色するのに十分な時間細胞培養をタンパク染料と接触させ、次で過剰の染料を除去することによつて細胞培養を染色する特許請求の範囲第1項記載の方法。

4. 次の工程：

a. ウイルス試料を自動的に希釈し；

⑪特開昭 52-31825

⑬公開日 昭52.(1977) 3.10

⑫特願昭 51-105063

⑫出願日 昭51.(1976) 9.3

審査請求 未請求 (全7頁)

庁内整理番号

7043 44

6904 49

7421 49

⑫日本分類

30 D3

113 E6

36(2)B5

⑫ Int. Cl²

C12K 1/00

G01N 33/16

b. 細胞懸濁液を自動的に送り；

c. 組織培養の培養の間に同時に感染および細胞シートの形成を行ない；そして

d. 染色し、光学的拡大なしに細胞被害効果を決定する；

よりなることを特徴とするウイルス検定法。

5. ウイルスが風疹である特許請求の範囲第1項記載の方法。

6. ウイルスがおたふくかぜである特許請求の範囲第1項記載の方法。

7. ウイルスが麻疹である特許請求の範囲第1項記載の方法。

8. ウイルスがヘルペスである特許請求の範囲第1項記載の方法。

9. 次の工程

a. 血清試料を自動的に希釈し；

b. 感染ウイルスを自動的に添加し；

c. 血清/ウイルス混合物をあらかじめ培養し；

d. 細胞懸濁液を自動的に送り；

e. 組織培養の培養の間に同時に感染および細胞シートの生成を行ない；そして

f. 染色し、光学的拡大なしに細胞障害効果を決定する；

よりなることを特徴とする血清の抗体含量の測定法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、ウイルス感染性および血清中和抗体含量の半自動的決定に関する。

10 ウイルス決定においては、好適には電気一般的に調製されたウイルス標本の希釈物を、好適にはマイクロタイター平板の凹みに自動的にピペットで入れられている適当な組織培養発育細胞懸濁液と混和する。適当な
15 条件下平板中細胞の培養に次いで、平板から液を排出させ、タンパク染色法で細胞を染色し、次に光学的拡大なしに読取る。

20 血清中和抗体含量決定においては、決定される血清試料を好適には電気一般的に改修ウイルスと混和する。好適にはマイクロタイタ

ー平板の凹みに自動的にピペットで入れられている適当な組織培養発育細胞懸濁液に、あらかじめ培養された血清／ウイルス混合物を添加する。適当な条件下マイクロタイター平板中細胞の培養に次いで、平板から液を排出させ、タンパク染色法で細胞を染色し、次に光学的拡大なしに読取る。

本発明のウイルス決定は任意のウイルスに適用可能である。ヒトに影響を与えるウイルス並びに動物に影響を与えるウイルスに使用することができる。例示のために（それにより限定されることはない）、本発明のウイルス決定において使用することができるウイルスの例には、鼠痘、豚痘、おたふくかぜ、ヘルペス、ポリオ、水痘およびマレック病がある。

1. ウイルス決定

A. 決定平板の調製

無菌組織培養平板、転移平板およびふたを包みから取出し、組織培養平板中所定の場所

1 に転移平板と組立て、両者をふたで覆う。平板に、使用される細胞、検定が開始される日付および個々の同定番号の印をふたおよび組織培養平板上に共につける。各試料に対して
5 検定シートを準備する。

B. 試料の調製

凍結試料およびハウス・レファランス・スタンダードの部分標本を、冷水道水で部分的に充たした溶に入れることによつて迅速に解凍する。試料は使用直前に解凍し、検定のために取出すまで冷水浴中に置く。

凍結乾燥試料は、所要量の希釈剤を添加することによつて還元し、検定のために取出すまで冷水浴中に置く。

15 C. ビベツターの調製

20 広い捨てプラスチック製ため（reservoir）を自動ビベツターの基部の所定の位置に入れる。ユニット中、所定の位置にビベツティング・ヘッドを部分的に入れ、その後ビベツティング・ヘッドの最上部にゴムの真空隔膜を

置く。次に隔膜で覆ったビベツティング・ヘッドを最終位置に就かし、所定の場所に止める。次に無菌100cc容量ビベットを使用して希釈用増地約70ccをためにビベットで入れ、所要に応じてために再充填する。

D. 希釈器の調製

広い捨てプラスチック製ために約3/8インチの深さ（マイクロ希釈器の尖端の全浸没に対して十分）まで無菌蒸留水を充たす。

マイクロ希釈器の組合わせを希釈器から取出し、水に短時間浸漬し、吸取紙にくっつけ、次に各マイクロ希釈器をブンゼンバーナーの焰中で十分焼く。次に加熱したマイクロ希釈器を再び水に浸し、吸取紙にくっつけ、希釈器中に再置する。

平板毎にマイクロ希釈器の組合わせを取出し、吸取紙にくっつけて残留ウイルス懸濁液を除いた後、次に水リンスに浸漬し次に吸取する（更に2回浸漬と吸取のサイクルをくり返す）。オマの平板毎にマイクロ希釈器の組合わせを取

出し、吸取液にくっつけ、水に浸漬し、吸取り、上述したとおり焔で焼き、浸漬し、吸取る。この同じ操作を、その日の検定の終りに使用する。

E. 試料の力価測定

転移平板を組織培養平板、転移平板およびふたの組合わせから取出し、転移平板ホルダーに入れる（ふたは、組織培養平板の最上部に置き換える。）。転移平板ホルダーを自動ビベッター中に置き、希釈剤 0.075 ml（0.025 ml の滴、3 回）を、典型的には 96 箇の凹みである凹みの各々に添加する。次に転移平板ホルダーをビベッターから取出す。試験される試料の 1 滴（0.025 ml）を、転移平板の列 A 中の 12 箇の凹みの各々に、無菌ビベットを使用して注意して添加する。各試料に対して新しいビベットを使用する。次に転移平板ホルダーを自動希釈器中に置き、7 箇の 1:4 連続希釈（希釈当り 0.6 log₁₀）を行う。次に転移平板を転移平板ホルダーから

取出し、組織培養平板に戻し、ふたで覆う。試料が 4.2 log₁₀ を超える力価を有していると思われる場合には、希釈剤を使用して検定の直前その水準未満に少なくとも 10 倍希釈されるべきである。

試料およびレファレンス・スタンダードをすべて上のおりに希釈したとき、次のとおり細胞懸濁液を添加する：転移平板を組立てユニットから取出し、転移平板ホルダーに入れ、ふたで覆う。このユニットの組織培養平板を自動ビベッター中に置く（この直前に、希釈剤を含有する使い捨てたためを ml 当り約 160,000 ~ 約 260,000 個、好適には約 200,000 個の細胞の濃度の細胞懸濁液を含有する使い捨てたためで置換する。ビベッターを回収するために拭き、また空にしてユニットをフラッシュする。）。組織培養平板中の凹みの各々に取る量、0.075 ml の細胞懸濁液を添加する（0.025 ml の滴、3 回）。組織培養平板をビベッターから取出し、転

移平板をそれに入れ、次に引き上げて転移平板中のウイルス希釈物の組織培養平板中の細胞懸濁液への転移を行なわせる。転移平板を放棄し（オートクレーブ処理するため）、ふたを組織培養平板上に注意して合わせる。他の平板を同様に処理し、互に積み重ね、次に必要な温度、典型的には約 30℃ ~ 39℃ の培養器にウイルスに対する至適の培養時間の間を入れる。

10 検定のウイルスに対する至適の培養期間の終りに、平板を培養器から取出す。内容物は、手首をす早く動かして凹みを下に向けることによつて大きなパンに排出させる。次に、ために予めタンパク染料、例えばカルボールフクシンが充たされている自動ビベッター中に平板を置く。

カルボールフクシン染料は、凝厚形態で使用する。染色の後洗浄工程を行なつてよく、或いは染色の後洗浄工程なしに希釈形態で使用してよい。次に各凹みに染料 0.075 ml を添

加する（0.025 ml の滴、3 回）。0.5 分間またはそれ以上の後、染料を平板から排出させる（上述したとおり）。平板を水道水の深皿に浸漬して過剰の染料を洗い出し、前つとより排出させる（比較的希薄な染料の使用によつて洗浄をなくすることができる）。平板を紙タオルで乾燥し、そのふたで覆う。

F. 読取検定

平板は、光源に曝露することにより光学的拡大なしに顕微鏡で読取られる。便利な方法は、螢光箱に平板を置くことである。CPE（細胞病害効果（cytopathic effect））を示す凹みは、染色を示さない区域によつて容易に認められる。感染しない凹みは均一な赤色の塗質を有している。検定シート上感染した凹みは陽性（+）と評点し、感染しない凹みは陰性（-）と評価する。

試料の力価を計算するために、計算シートを使用して検定平板の各系に対して感染および非感染凹みを集計する。このシートに示さ

れるように、力価はリーダー・ミューンヒまたはカルバーの計算によつて計算される。略述すると、陰性を下向きに加え、陽性を上向きに加え、試料計算中示されるとおり各希釈水準において陽性の百分率を計算する。

II. 血清中和抗体検定

A. 検定平板の調製

無菌組織培養平板、転移平板およびふたをそれらの包みから取出し、組織培養平板中所定の場所に転移平板と組立て、両者をふたで覆う。平板に、使用される細胞、検定が開始される日付および個々の同定番号の印をふたおよび組織培養平板上に共につける。各試料に対して検定シートを準備する。

B. 試料の調製

検定すべき血清を56℃において30分間不活性化させ、使用前室温に冷却する。

C. ビベツターの調製

使い捨てプラスチック製のための自動ビベツターの基部の所定の位置に入れる。ユニット

中所定の位置にビベツティング・ヘッドを部分的に入れ、その後ビベツティング・ヘッドの最上部にゴムの真空密封を置く。次に筒状で覆ったビベツティング・ヘッドを最終位置に動かし、所定の場所止める。次に無菌100cc容量ビベットを使用して希釈用増地約70ccをためにビベットで入れ、所要に応じてために補充する。

D. 希釈器の調製

使い捨てプラスチック製のために、約3/8インチ深さ（マイクロ希釈器の先端の全長に対して十分）まで無菌蒸留水を充たす。

マイクロ希釈器の組合わせを希釈器から取出し、この水に短時間浸し、吸取紙にくっつけ、次に各マイクロ希釈器をブンゼンバーナーの管中で十分焼く。次に加熱したマイクロ希釈器を再び水に浸し、吸取紙にくっつけ、希釈器中に再置する。

平板毎にマイクロ希釈器の組合わせを取出し、吸取紙にくっつけて残留ウイルス懸濁液を除

き、次に水リンスに浸漬し次に吸取る（更に2回浸漬と吸取のサイクルをくり返す）。オマの平板毎に、マイクロ希釈器の組合わせを取出し吸取紙にくっつけ、水に浸漬し、吸取り、上述したとおり管で焼き浸漬し吸取る。この同じ操作を、その日の検定の終りに使用する。

E. 試料の力価測定

転移平板を組織培養平板、転移平板およびふたの組合わせから取出し、転移平板ホルダーに入れる（ふたは、組織培養平板の最上部に置き換える。）。転移平板ホルダーを自動ビベツター中に置き、希釈剤0.025ml（1滴）を96個の凹みの各々に添加する。次に転移平板ホルダーをビベツターから取出す。試料される試料（血清）の1滴（0.025ml）を、転移平板の列A中2個の隣接した凹みの各々に無菌ビベットを使用して注意して添加し、試験される5種の他の血清に対しても同様にする。次に転移平板ホルダーを自動希釈器中に置き、7回の1:2希釈を行なう。次

に転移平板ホルダーを自動希釈器から取出し、自動ビベツター中に置き、そのために感染ウイルス懸濁液で充たす。次に転移平板の各凹みに感染ウイルス懸濁液1滴（0.025ml）を添加する。次に希釈された血清試料-ウイルス混合物を転移平板ホルダーから取出し、組織培養平板に入れ、ふたで覆い、36±1℃、5% CO₂、95% RHにおいて1時間培養する。培養期間の終りに、転移平板を転移平板ホルダーに入れ、ふたで覆う。組織培養平板を、ために適当な組織培養懸濁液（典型的にはml当たり160,000個のVERO細胞）で充たされている自動ビベツター中に入れる。組織培養平板中の凹みの各々に対して、この細胞懸濁液0.075ml（3滴）を添加する。組織培養平板をビベツターから取出し、転移平板をそれの中に入れ、次に引き上げて転移平板中のウイルス希釈物の組織培養平板中の細胞懸濁液への転移を行なわせる。転移平板を放棄し（オートクレーブ処理するため）、

- ふたを組織培養平板上に注意して合わせる。他の平板を同様に処理し、互に積重ね、次に必要な培養温度、典型的には約30℃～約39℃の培養器にウイルスに対する至適の培養温度の範囲に入れる。

- 特定のウイルスに対する至適の期間の終りに、平板を培養器から取出す。内容物は、手首をす早く動かし皿を下に向けることによつて大きなパンに押出させる。次に、ために予めテンパク染料、例えばカルボールフクシンが充たされている自動ピベッター中に平板を置く。

- カルボフクシン染料は緩厚形態で使用し、染色の後洗浄工程を行なつてよく、或いは染色の後洗浄工程なしに希釈形態で使用してよい。次に各皿みに染料0.075 mlを添加する(0.025 mlの皿、3皿)。0.5分間またはそれ以上の後、染料を平板から押出させる(上述したとおり)。平板を水道水の染皿に浸留して過剰の染料を洗い出し、前のとおりが

出させる。比較的高価な染料の使用によつて洗浄をなくすことができる。平板を紙タオルで乾燥し、そのふたで覆う。

C. 組織処理

試験される血清が力価測定に使用されるに値を有して陽性があるかどうか確かめるために、通常明で攻撃ウイルスを置換える以外すべてのことが同じである他の1平板を調製する。

II. ウイルス力価測定

この操作中使用する攻撃ウイルスを、パイラル・アツセイ・フコシージュニア中記載されているとおり同時に決定する。血清中和決定で使用される特例に対しては、ウイルスは、0.025 ml当たり20～50 TCID₅₀を含む。

次の実施例は本発明を示すものだが、それを限定しない。別示しない限り、温度はすべて摂氏度で表わされる。

例 1.

A. 組織培養

- ウサギ腎臓細胞系を、E MEM (イーグルの最小必須培地) + 10% V/V胎児コウシ血清 (熱不活性化せず) + 1% V/VのL-グルタミンの200ミリーモル溶液 + 0.05% (のネオマイシンの100 mg/ml溶液 (L-グルタミンは使用直前添加する) 中、ml当たり200,000個の細胞濃度で決定に使用される日に調製する。試料当たり約8 mlの細胞懸濁液を要する。使用するまで細胞を保存する。

B. 培地

- 希釈用培地 - E MEM + 2% V/V胎児コウシ血清 (熱不活性化せず) + 0.05% V/Vのネオマイシンの100 mg/ml溶液 + 1% V/VのL-グルタミンの200ミリーモル溶液 (L-グルタミンは使用直前添加する)。

C. カルボールフクシン染料、緩厚

- 10 mlのフクシン原液 (9.5 mlの濃9.5%エタノール中10%の塩基性フクシンを15分間混拌)

- 70 mlのエタノール、9.5%

320 mlのフェニノール、水中5%

D. ウイルス試験

1. 試験まで凍結試料を-70℃に貯蔵する。

2. 試験まで凍結乾燥試料を2～5℃に貯蔵する。

3. ハウス・レファレンス・スタンダードウイルス懸濁液の凍結部分標準を、試験まで-70℃に貯蔵する。各決定の場合、部分標準を試験する。

前の詳細な説明中示されているとおり、決定平板、ピベッターおよび希釈器を調製する。風疹ウイルスの試料は、凍結であつても凍結乾燥であつても、発明の詳細な説明のセクションB中示されているとおり調製される。次に転移平板の列A中の皿みに試料を添加し、詳細な説明のセクションE中のとおり試料を力価測定し、培養しそして染色する。培養は32% ± 1、5% CO₂、95 RHにおいて10日間実施する。染色は、0.1% カルボールフクシン

ン染料を使用して行なり。

次に蛍光箱に置くことによつて平板を読み取り、感染した凹みを陽性(+)、感染しない凹みを陰性(-)と計点する。設定シートは次のとおりである。

試料

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
F	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

次の計算シートを使用しリード-ミュンヒまたはカルバーの技術を使用して試料の力価を計算する。

試料の

	\log_{10} 希釈	P/N	N	P	P/P
A	0.6	12/0			
B	1.2	12/0			
C	1.8	12/0			
D	2.4	12/0	0	20	100
E	3.0	4/8	8	8	50
F	3.6	3/9	17	4	19
G	4.2	1/11	28	1	3
H	4.8	0/12	40	0	0

この試料の力価は0.025 ml 当たり 3.0 \log_{10} である。

例 2.

おたふくかぜ血清-中和抗体の決定

A. 組織培養

Vero(尾長ザル腎連続細胞系)細胞懸濁液を、培地 199-10 羽 V/V 胎児コウシ血清(不活性化せず)+0.05 羽 V/V のネオマイシンの 100 羽/ml 溶液中 ml 当たり 160,000

型の細胞の濃度で検定中使用すべき日に調製する。平板当たり約 8 ml の細胞懸濁液を要す。使用まで細胞を攪拌する。

B. 希釈培地

培地 199 + リットル 20 ml のガンマコウシ血清(不活性化) + リットル 83 ml の 2.8 羽 NaHCO_3 + 0.05 羽 V/V のネオマイシンの 100 羽/ml 溶液。

C. カルボールフクシン染料、希薄

10 ml のフクシン原液

175 ml のエタノール、95 羽

800 ml のフェノール、水中 5 羽

D. 血清試料

試料はすべて使用前不活性化(56°、30 分)させる。

E. 感染ウイルス

使用直前に希釈用培地で 1:20 希釈した MSD おたふくかぜハウス・スタンダード 3 号。

F. 操作

前の詳細な説明中示されているとおり、決定平板、ピペッターおよび希釈器を調製する。転移平板ホルダー中に保持した転移平板をピペッター中に置き、96 個の凹みの各々に希釈用培地 1 滴(0.025 ml)を添加する。転移平板の列 A 中 2 位の培養する凹みの各々に試験される血清 1 滴(0.025 ml)を添加し、試験される 5 種の他の血清に対しても同様にする。次に転移平板を自動希釈器中に置き、操作するとき、試験される血清の 7 回の連続 1:2 希釈を行なり。次にホルダー中の転移平板をピペッター中に再置し(この直前に、使い捨てのために感染ウイルスの懸濁液を充たす)。各凹みに感染ウイルス 1 滴を添加する。次に転移平板を組織培養平板中に入れ、ふたで覆い、培養器(36 ± 1°、5 羽 CO_2 、95 羽 RH)中に 1 時間置く。この期間の終りに転移平板を組立てユニットから取出し、転移平板ホルダーに入れ、ふたで覆う。このユニットの組織培養平板を自動ピペッター中に置

き(この直前に、使い捨てのために細胞懸濁液を完了す)。組織培養平板中96個の凹みの各々に細胞懸濁液0.075mlを添加する。組織培養平板をピペッターから取出し、次に引き上げ、転移平板中の血清希釈物-ウイルス混合物の転移平板中の細胞懸濁液への転移を行なわせる。転移平板を放棄し、組織培養平板上にふたを合わせる。他の平板を同様に処理し、平板はすべて36℃、5% CO₂に7日間保つ。希釈カルボルフクシン染料を使用して平板を染色し、排出させるが、洗浄は第1記載のとおりに脱取る。

(2) 血清対照

カ細胞測定に使用される細胞に血清が毒性があるかどうか確かめるため、希釈剤で攻撃ウイルスを置換える以外すべてのことが同じである11平板を調製する。

(3) ウイルスカ価測定

この操作中使用する攻撃ウイルスを、第1記載したとおり、同時に設定する。血清中

和検定中使用される希釈液としてはウイルスは0.025%より20~50 TCID₅₀を含むする。

(4) 検定シート

	血清 1		血清 2		血清 3		血清 4		血清 5		血清 6	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
B	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
C	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
E	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
F	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
G	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
H	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-

結果の計算

希 釈	血清1	血清2	血清3	血清4	血清5	血清6	
A	1 : 8	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2
B	1 : 4	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2
C	1 : 5	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2
D	1 : 16	2 / 0	0 / 2	2 / 0	0 / 2	2 / 0	2 / 0

E 1:32 2/0 2/0 2/0 0/2 2/0 2/0
 F 1:64 2/0 2/0 2/0 0/2 2/0 2/0
 G 1:128 2/0 2/0 2/0 2/0 2/0 2/0
 H 1:256 2/0 2/0 2/0 2/0 2/0 2/0
 カ 価 <1:2 1:16 1:2 1:64 <1:2 1:8
 例 3.

例1の操作に従つて192個の血清を含むヘルペスウイルス中和検定を実施した。含まれる全時間は2人日であつた。この試験は、48個の自動-CPE平板および約500個の試験を要した。標準ブラク検定(PFU)によつて同じ試験を実施すれば20人日の仕事を要し、2,000個のCPE平板および約2,500個の試験を要したであろう。

(3) 委任状及翻訳文 各1通

(4) 優先権主張証明書及翻訳文 各1通

7. 前記以外の発明者及代理人

(1) 発明者の住所・氏名

アメリカ合衆国、ペンシルヴァニア 19004.
アンブラー、マリニツタ、ドライヴ 717

ウィリアム ジェー、マクアレー

アメリカ合衆国、ペンシルヴァニア 19038.
ノース ウェールズ、サンディーズ、ローン 1408

ウィリアム ジェー、ミラー

(2) 代理人の住所・氏名

〒100

東京都千代田区丸の内3-2-3富士ビル510号室
電話(215) 1561~1565

(6655) 井理士 安 井 幸 一

岡 上

(6459) 井理士 栗 林 貴